

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/IT04/000714

International filing date: 21 December 2004 (21.12.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: IT
Number: RM2003A000596
Filing date: 23 December 2003 (23.12.2003)

Date of receipt at the International Bureau: 03 March 2005 (03.03.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse



Ministero delle Attività Produttive

Direzione Generale per lo Sviluppo Produttivo e la Competitività

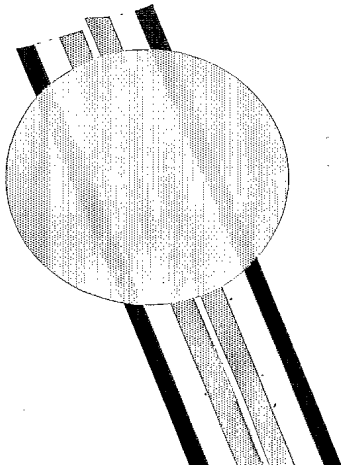
Ufficio Italiano Brevetti e Marchi

Ufficio G2

**Autenticazione di copia di documenti relativi alla domanda di brevetto per:
INVENZIONE INDUSTRIALE N. RM 2003 A 000596.**

Si dichiara che l'unita copia è conforme ai documenti originali depositati con la domanda di brevetto sopra specificata, i cui dati risultano dall'accluso processo verbale di deposito.

ROMA li.....21 DIC. 2006



IL FUNZIONARIO

.....Giampietro Carlotto.
Giampietro Carlotto

AL MINISTERO DELL'INDUSTRIA DEL COMMERCIO E DELL'ARTIGIANATO

UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI - ROMA

DOMANDA DI BREVETTO PER INVENZIONE INDUSTRIALE, DEPOSITO RISERVE, ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO

MODULO A

A. RICHIEDENTE (I) SIGMA-TAU INDUSTRIE FARMACEUTICHE RIUNITE S.p.A.

1) Denominazione ROMA codice 00885531004

Residenza

2) Denominazione

Residenza

B. RAPPRESENTANTE DEL RICHIEDENTE PRESSO L'U.I.B.M.

cognome nome cod fiscale

denominazione studio di appartenenza

via n. città cap (prov)

C. DOMICILIO ELETTIVO destinatario

via Le Shakespeare, 47 n. 0047 città Roma cap 00144 (prov) RM

D. TITOLO

classe proposta (sez/cl/scl) gruppo/sottogruppo

"Uso di inibitori della pentraxina lunga PTX3, per la preparazione di un medicamento per la prevenzione e cura di patologie che rispondono all'inibizione dell'attività biologica di detta PTX3"

ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO: SI ☐ NO ☒

SE ISTANZA: DATA N° PROTOCOLLO

cognome nome

E. INVENTORI DESIGNATI

cognome nome

1) MANTOVANI Alberto

3) BOTTAZZI Barbara

2) GARLANDA Cecilia

4) CARMINATI Paolo

F. PRIORITÀ

nazione o organizzazione

tipo di priorità

numero di domanda

data di deposito

allegato S/R

SCIOGLIMENTO RISERVE

Data N° Protocollo

1) NESSUNA

2)

G. CENTRO ABILITATO DI RACCOLTA CULTURE DI MICROORGANISMI, denominazione

H. ANNOTAZIONI SPECIALI

NESSUNA

DOCUMENTAZIONE ALLEGATA

N. es.

Doc. 1) 21 PROV n. pag 11

riassunto con disegno principale, descrizione e rivendicazioni (obbligatorio 1 esemplare)

Doc. 2) 10 PROV n. tav. 1

disegno (obbligatorio se citato in descrizione, 1 esemplare)

Doc. 3) 10 RIS

lettera d'incarico, procura o riferimento procura generale

Doc. 4) 10 RIS

designazione inventore

Doc. 5) 10 RIS

documenti di priorità con traduzione in italiano

Doc. 6) 10 RIS

autorizzazione o atto di cessione

Doc. 7) 10

nominativo completo del richiedente

Euro 188,51 (centoottantotto/51)

obbligatorio

8) attestati di versamento, totale lire

Domenico Campanelli

COMPILATO IL 23/12/2003

FIRMA DEL(I) RICHIEDENTE (I)

SIGMA-TAU INDUSTRIE FARMACEUTICHE RIUNITE S.p.A.

CONTINUA SI/NO no

DEL PRESENTE ATTO SI RICHIEDE COPIA AUTENTICA SI/NO SI

CAMERA DI COMMERCIO I. A. A. DI

VERBALE DI DEPOSITO NUMERO DI DOMANDA

L'anno millenovecento il giorno 23 DIC. 2003 del mese di

il(i) richiedente(i) sopraindicato(i) ha(hanno) presentato a me sottoscritto la presente domanda, corredata di n. fogli aggiuntivi per la concessione del brevetto soprariportato.

I. ANNOTAZIONI VARIE DELL'UFFICIALE ROGANTE

IL DEPOSITANTE

timbro dell'Ufficio

UFFICIALE ROGANTE
Silvia Altieri

RIASSUNTO INVENZIONE CON DISEGNO PRINCIPALE

NUMERO DOMANDA

RM 2003 A 000596

PAG. A

DATA DI DEPOSITO

23.12.2003

NUMERO BREVETTO

DATA DI RILASCIO

A. RICHIEDENTE (I)

Denominazione

SIGMA-TAU INDUSTRIE FARMACEUTICHE RIUNITE S.p.A.

Residenza

Viale Shakespeare, 47 - 00144 Roma

D. TITOLO

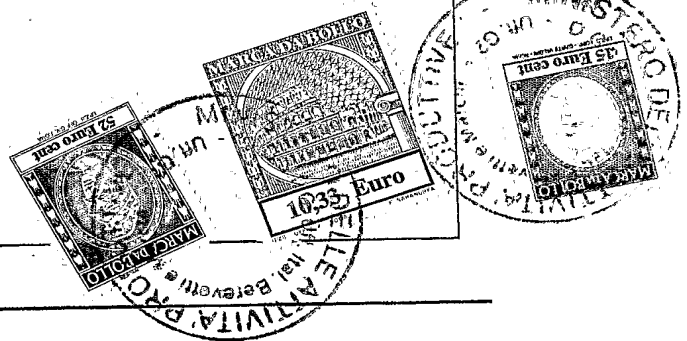
Uso di inibitori della pentraxina lunga PTX3, per la preparazione di un medicamento per la prevenzione e cura di patologie che rispondono all'inibizione dell'attività biologica di detta PTX3"

Classe proposta (sez./cl./scl/)

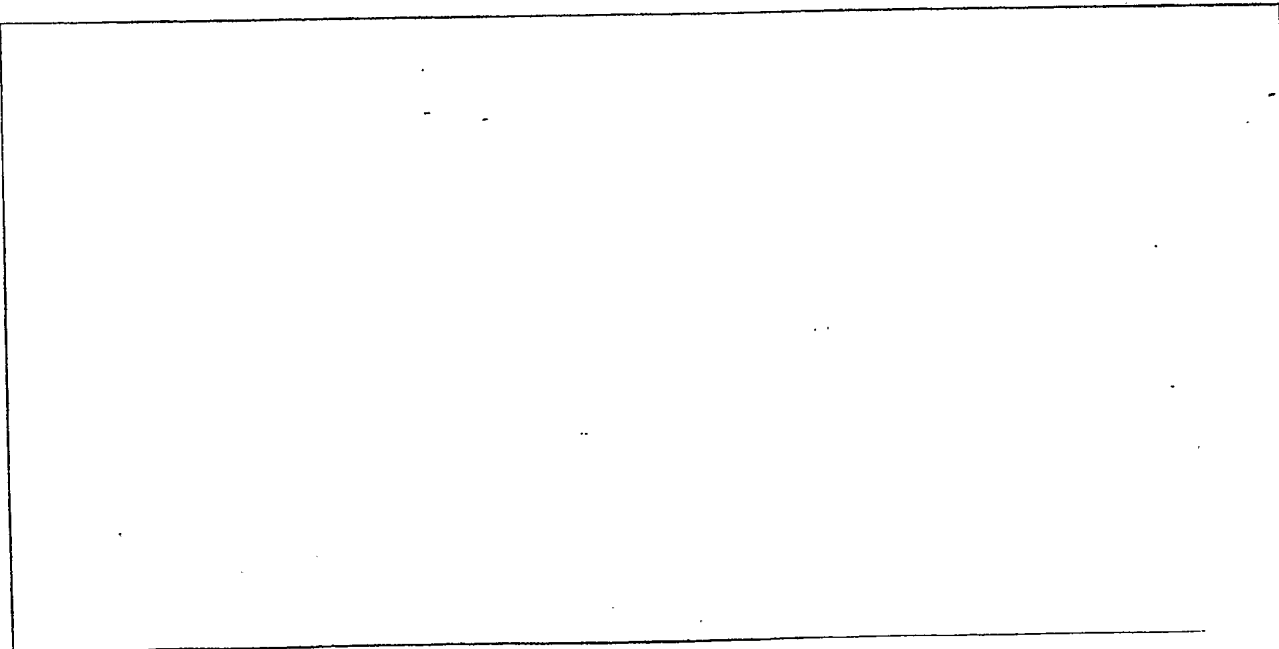
(gruppo/sottogruppo)

L. RIASSUNTO

Viene descritto l'uso di inibitori della pentraxina lunga PTX3, per la preparazione di un medicamento per la prevenzione e cura di patologie autoimmuni e di patologie degenerative dell'osso e della cartilagine.



M. DISEGNO



La presente invenzione riguarda l'uso di inibitori della pentraxina lunga PTX3 per la preparazione di un medicamento per il trattamento di patologie autoimmuni e di patologie degenerative dell'osso e della cartilagine.

5 **Campo dell'invenzione**

La PTX3 è una glicoproteina capace di organizzarsi spontaneamente in una struttura omodecamerica tenuta insieme da ponti disolfuro, che viene espressa in vari tipi cellulari (Bottazzi et al., J. Biol. Chem. 1997; 272: 32817-32823) particolarmente in
10 fagociti mononucleari e cellule endoteliali dopo esposizione alle citochine infiammatorie Interleuchina 1beta (IL-1beta) e Tumor Necrosis Factor alfa (TNF-alfa).

La PTX3 è costituita da due domini strutturali, uno N-terminale non correlato ad alcuna molecola nota, e uno C-terminale
15 simile alle pentraxine corte quali la proteina C-reattiva (CRP). E' stata riscontrata una elevata somiglianza tra la PTX3 umana (hPTX3) e le PTX3 animali.

Per una rassegna sulle pentraxine, si veda H. Gewurz et al, Current Opinion in Immunology, 1995, 7:54-64.

20 Sia la PTX3 ricombinante che la PTX3 espressa da cellule primarie (es. fibroblasti cellule endoteliali e cellule dell'immunità innata) è organizzata prevalentemente in una struttura decamerica stabilizzata da ponti disolfuro. Il singolo monomero della PTX3 ha un peso molecolare di circa 45 kDa che può essere ottenuto dalla
25 proteina decamerica attraverso riduzione dei ponti di solfuro e

successiva alchilazione delle cisteine ridotte coinvolte nell'interazione inter monomero o attraverso mutagenesi sito specifica delle stesse (Bottazzi et Al., J., Biol Chem 1997; 272: 32817-32823).

Studi recenti su pazienti affetti da artrite reumatoide hanno
5 mostrato un aumento significativo dei livelli di espressione di PTX3 nel liquido sinoviale. Questo aumento di espressione della PTX3 è associato ai processi infiammatori che caratterizzano questa patologia (Lucchetti et al. Clin. Exp. Immunol. 2000; 119:196-202).

In WO 03/086380 viene descritto l'uso di un inibitore
10 dell'espressione genica della PTX3 per la cura di Patologie autoimmuni, tra cui l'artrite reumatoide.

WO 03/086380 si differisce dalla presente invenzione in quanto prevede l'uso sia di composti completamente differenti che di un metodo di inibizione completamente differente, rispetto a quanto
15 descritto nella presente invenzione.

Infatti, nella presente domanda vengono descritti antagonisti della PTX3 capaci d'inibire direttamente l'attività biologica della proteina (PTX3).

È noto all'esperto dell'arte che la regolazione (in maniera
20 selettiva) dell'espressione genica ad opera di piccole molecole, tale da non modificare l'espressione anche di altri geni coinvolti nell'infiammazione come insegnato in WO 03/086380, può essere difficoltosa. Inoltre, inibire a livello genico l'espressione di una proteina che svolge un ruolo fondamentale in importanti funzioni

biologiche potrebbe provocare effetti indesiderati quali ad esempio aumento della suscettibilità alle infezioni e sterilità riproduttiva.

In campo medico rimane quindi molto sentita la necessità di avere a disposizione ulteriori inibitori in grado di funzionare come
5 antagonisti della PTX3, che siano utili per il trattamento delle patologie in accordo con la presente invenzione.

Descrizione dell'invenzione

È stato ora trovato che inibitori o antagonisti della PTX3 possono essere utilizzati per prevenire e curare patologie
10 autoimmuni e patologie degenerative dell'osso o della cartilagine.

Un esempio non limitativo di inibitori della PTX3 in accordo con la presente invenzione sono anticorpi anti-PTX3 monoclonali o policlonali; mentre un esempio non limitativo di antagonisti della PTX3 in accordo con la presente invenzione sono la PTX3
15 monomerica o suoi derivati peptidici o peptidomimetici.

È pertanto oggetto della presente invenzione l'uso di inibitori o di antagonisti della pentraxina lunga PTX3, che sono capaci di impedire l'attività biologica della pentraxina lunga PTX3, quali agenti utili per la preparazione di un medicamento per il trattamento di
20 patologie autoimmuni scelte nel gruppo comprendente: lupus eritematoso sistemico (SLE), sclerosi multipla (MS), artrite, diabete, tiroiditi, anemia emolitica, orchite atrofica, Goodpasture's disease, retinopatia autoimmune, trombocitopenia autoimmune, miastenia grave, cirrosi biliare primaria, epatite cronica aggressiva, colite
25 ulcerativa, dermatiti, glomeruloneprite cronica, sindrome di Sjogren,

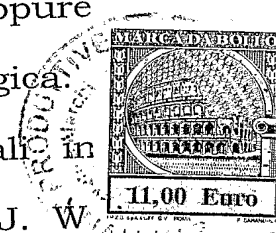
sindrome di Reiter, miositi, sclerosi sistemica e poliartriti; e di patologie degenerative dell'osso o della cartilagine scelte nel gruppo comprendente: osteoartrite; osteoartrosi; malattie degenerative delle giunture; carenze di collagene; patologie della cartilagine o dell'osso caratterizzate da ossificazione endocondriale, artriti primarie tra cui ad esempio artrite reumatoide, artrite giovanile, artrite cronica indifferenziata, poliartrite; artriti secondarie di origine auto immune tra cui ad esempio artrite da lupus eritematoso sistemico, artrite psoriasica, artrite del morbo di Crohn; artriti di origine dismetabolica tra cui ad esempio artropatia da urato monosodico, da pirofosfato, da ossalacetato di calcio; artriti infettive, osteoporosi, osteonecrosi asettica, patologie dell'osso causate da tumori benigni e maligni.

Descrizione dettagliata dell'invenzione

15 Per "inibitori della pentraxina lunga PTX3" si intende qualsiasi anticorpo monoclonale o policlonale, indipendentemente dalla sua origine naturale (umana o animale), ricombinante oppure sintetica, capace di legare la PTX3 e di impedirne l'attività biologica.

Un esempio di preparazione di anticorpi monoclonali in
20 accordo con la presente invenzione è descritto da Godine, J. W. 1986, in Monoclonal Antibodies: Principle and Practice. Academic Press, San Diego.

Mentre un esempio di preparazione di anticorpi policlonali in accordo con la presente invenzione è descritto da Harlow, E. and



Lane D., in *Antibodies: A Laboratory Manual*: Cold Spring Harbor Laboratory, 1988; Cold Spring Harbor, NY.

Per "pentraxina monomerica" si intende una qualsiasi pentraxina monomerica, indipendentemente dalla sua origine naturale (umana o animale) ricombinante oppure sintetica.

Per "derivato della pentraxina monomerica" si intende sia un analogo funzionale di detta pentraxina monomerica che rechi almeno una mutazione, e che conservi la capacità funzionale di inibizione selettiva dell'attività della PTX3, che un derivato peptidico o peptidomimetico capace di simulare domini lineari o conformazionali della PTX3 e che conservi la capacità funzionale di inibizione selettiva dell'attività della PTX3.

Come pentraxina monomerica è preferita quella umana, la cui sequenza è descritta in WO99/32516.

Le patologie autoimmuni legate ad una alterata attivazione della PTX3 sono comprese nel gruppo comprendente: lupus eritematoso sistemico (SLE), sclerosi multipla (MS), artrite, diabete, tiroiditi, anemia emolitica, orchite atrofica, Goodpasture's disease, retinopatia autoimmune, trombocitopenia autoimmune, miastenia grave, cirrosi biliare primaria, epatite cronica aggressiva, colite ulcerativa, dermatiti, glomeruloneprite cronica, sindrome di Sjogren, sindrome di Reiter, miositi, sclerosi sistemica e poliartriti;

Le patologie degenerative dell'osso o della cartilagine legate ad una alterata attivazione della PTX3 sono comprese nel gruppo comprendente: osteoartrite; osteoartrosi; malattie degenerative delle

giunture; carenze di collagene; patologie della cartilagine o dell'osso caratterizzate da ossificazione endocondriale, artriti primarie tra cui ad esempio artrite reumatoide, artrite giovanile, artrite cronica indifferenziata, poliartrite; artriti secondarie di origine auto immune tra cui ad esempio artrite da lupus eritematoso sistemico, artrite psoriasica, artrite del morbo di Crohn; artriti di origine dismetabolica tra cui ad esempio artropatia da urato monosodico, da pirofosfato, da ossalacetato di calcio; artriti infettive, osteoporosi, osteonecrosi asettica, patologie dell'osso causate da tumori benigni e maligni.

Vengono di seguito riportati alcuni esempi che illustrano ulteriormente l'invenzione.

ESEMPIO 1

Topi PTX3-deficienti vennero utilizzati in un modello murino di artrite indotta da collagene (CIA) (Campbell et al. Eur. J. Immunol 2000; 30: 1568-75). Lo scopo dell'esperimento fu quello di valutare la suscettibilità dei topi PTX3-/- all'induzione di un fenotipo artritico.

Topi 129 sv x C57 BL/6 PTX3-/- vennero trattati con 100 µg di collagene tipo II di pollo (SIGMA) in adiuvante completo di Freund addizionato di 250 µg di *M. tuberculosis* inattivato al calore in un volume totale di 100 µl attraverso iniezioni multiple intradermiche nella regione prossimale alla coda. Lo stesso trattamento venne ripetuto dopo 21 giorni.

Alla fine del periodo di somministrazione venne osservata l'incidenza e la gravità dell'artrite utilizzando un punteggio arbitrario che tenne conto della presenza di articolazioni infiammate e delle loro dimensioni. I risultati ottenuti sono riportati in Tabella 1.

5 La maggiore incidenza della patologia nei topi PTX3 +/+, riportata in Tabella 1 fornisce l'evidenza che i topi PTX3 -/- sono meno suscettibili allo sviluppo dell'artrite indotta da collagene. Questo dato è confermato nello score clinico che mostra una maggiore severità dell'artrite nei topi PTX3+/+ rispetto ai topi PTX3 -
10 /-.

I risultati ottenuti indicano che l'assenza di PTX3 o la sua inibizione è utile per la prevenzione ed il trattamento di patologie infiammatorie e/o degenerative dell'osso e della cartilagine.

15 **Tabella 1**

Artrite da collagene in topi PTX3+/+ e PTX3-/-

Animali	Incidenza*	Score clinico°
PTX3 +/+	3/5	10
PTX3 -/-	3/7	3.6

20 *Incidenza alla fine dell'esperimento (a 60 giorni dalla prima immunizzazione).

° Score clinico medio degli animali con artrite alla fine dell'esperimento.

25 **Legenda:** Dopo la seconda immunizzazione, la presenza di segni clinici di artrite agli arti venne valutata due volte alla settimana. Ad ogni arto interessato venne dato uno score clinico da 1 a 4; ogni animale poteva avere quindi uno score massimo di 16.

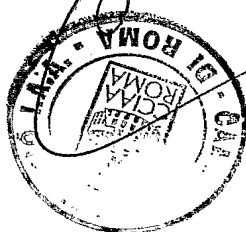
Per quanto riguarda gli aspetti attinenti la applicabilità industriale, la pentraxina monomerica o i suoi derivati peptidici o peptidomimetici o l'anticorpo anti-pentraxina PTX3 saranno sotto forma di composizione farmaceutica in cui i principi attivi vengono
5 solubilizzati e/o veicolati da eccipienti e/o diluenti farmaceuticamente accettabili, quali acqua sterile, carbossimetilcellulosa o altri eccipienti noti all'esperto dell'arte.

Esempi di composizioni farmaceutiche utilizzabili per la pentraxina monomerica sono le stesse descritte per la pentraxina
10 lunga PTX3 (in WO 99/32516).

I composti in accordo con la presente invenzione possono essere somministrati per via enterale o parenterale, particolarmente preferita è la forma farmaceutica ad impianto a lento rilascio o l'iniezione intra-articolare.

15 La dose giornaliera dipenderà, in accordo con il giudizio del medico curante sulla base del peso, età e condizioni generali del paziente.

Si fa presente che la preparazione di dette composizioni farmaceutiche, comprese quelle a lento rilascio, potrà essere
20 effettuata usando le comuni tecniche e strumentazioni, ben note al farmacista ed all'esperto di tecnologia farmaceutica.



SIGMA TAU
IND. FARM. RIUNITE S.p.A.
Viale Shakespeare, 47
00144 ROMA



RIVENDICAZIONI

1. Uso di inibitori o di antagonisti della pentraxina lunga PTX3 per la preparazione di un medicamento per la prevenzione e cura di patologie autoimmuni e di patologie degenerative dell'osso e della cartilagine.
2. Uso secondo la rivendicazione 1, in cui per inibitore della pentraxina lunga PTX3 si intende un qualsiasi anticorpo monoclonale o policlonale capace di legare la PTX3.
3. Uso secondo la rivendicazione 2, in cui l'anticorpo è di origine naturale (umana o animale), ricombinante oppure sintetica.
4. Uso secondo la rivendicazione 1 in cui l'antagonista è la PTX3 monomerica, o un suo derivato peptidico o peptidomimetico che conservi la capacità funzionale di inibizione selettiva dell'attività della PTX3.
5. Uso secondo la rivendicazione 4, in cui l'antagonista è di origine naturale (umana o animale), ricombinante oppure sintetica.
6. Uso secondo la rivendicazione 4, in cui la pentraxina monomerica è di origine umana.
7. Uso secondo la rivendicazione 1 in cui la patologia autoimmune è scelta nel gruppo comprendente: lupus eritematoso sistemico (SLE), sclerosi multipla (MS), artrite, diabete, tiroiditi, anemia emolitica, orchite atrofica, Goodpasture's disease, retinopatia autoimmune, trombocitopenia autoimmune, miastenia grave, cirrosi biliare primaria, epatite cronica aggressiva, colite

ulcerativa, dermatiti, glomerulonefrite cronica, sindrome di Sjogren, sindrome di Reiter, miositi, sclerosi sistemica e poliartriti.

8. Uso secondo la rivendicazione 1 in cui la patologia degenerativa dell'osso o della cartilagine è scelta nel gruppo comprendente: osteoartrite; osteoartrosi; malattie degenerative delle giunture; carenze di collagene; patologie della cartilagine o dell'osso caratterizzate da ossificazione endocondriale, artriti primarie tra cui ad esempio artrite reumatoide, artrite giovanile, artrite cronica indifferenziata, poliartrite; artriti secondarie di origine auto immune tra cui ad esempio artrite da lupus eritematoso sistemico, artrite psoriasica, artrite del morbo di Crohn; artriti di origine dismetabolica tra cui ad esempio artropatia da urato monosodico, da pirofosfato, da ossalacetato di calcio; artriti infettive, osteoporosi, osteonecrosi asettica, patologie dell'osso causate da tumori benigni e maligni.

SIGMA TAU
IND. FARM. RIUNITE S.p.A.
Via Shakespeare, 47
00144 ROMA

